中國醫藥學院研究年報
China Medical College
Annual Bulletin
Vol. 15 (1989)

小蘗鹼之生物藥劑學研究

陳瑞龍* 謝明村 蕭秀玲 劉正雄
中國醫藥學院 中國藥學研究所 *國立台灣大學 藥學系

黃連，黃柏爲中醫要藥，均含有多量之小蘗鹼。其單味，及複方製劑，廣泛應用於急性腸炎及急慢性菌痢。近代醫藥方面，小蘗鹼常口服作爲腸內殺菌、整腸、止瀉之用。目前臨床上因應口服不便之患者，亦應用小蘗鹼注射製劑。本研究之一部份係在探討硫酸小蘗鹼靜脈注射後之腸分布情形。

經由四隻家兎之硫酸小蘗鹼靜脈注射投藥與活性碳吸著試驗結果，口服投與足量活性碳與否，對於硫酸小蘗鹼靜脈注射後之血中濃度對時間曲線下面積(AUC)，清除率(Cℓ)，半衰期(TI/2)，經Two-Way ANOVA檢定之P＞0.05%，即無顯著影響。顯示靜脈注射給藥後，小蘗鹼至腸之分佈極低；又於靜脈注射後，膽汁中小蘗鹼排泄量測定試驗結果，其膽汁中總排泄量約佔投藥量之0.27% ，由膽汁排泄很少。綜合上述，硫酸小蘗鹼靜脈注射之腸內殺菌作用，效果可能較口服投藥者差。

硫酸小蘗鹼經由靜脈注射及口服之血中濃度經時變化研究結果，再度證明口服小蘗鹼之絕對生體可用率極低。又於口服試驗中，投與大劑量(5mg/kg以上)時，發生家兎肛門出血、腸脫垂、潰瘍、繼而死亡等現象。由離體迴腸之收縮試驗顯示，迴腸平滑肌在小蘗鹼低劑量時興奮，高劑量時漸抑制最後麻痺。

緒 言

黃連、黃柏爲中醫要藥，均含有多量小蘗鹼。其單味或複方製劑如香連丸、黃連丸、白頭翁湯等，廣泛應用於急性腸炎及慢性菌痢(1)。據近代醫藥研究，口服小蘗鹼對於家兎霍亂之治療效果和氯黴素及四環素相當(2)，將其臨床應用於治療流行性腸炎，並認爲是霍亂和急性非特異性下痢的最佳治療劑(3)。

目前臨床上有應用小蘗鹼注射製劑，作爲腸內殺菌、整腸、止瀉之用，其鑑於患有胃腸疾者或會因口服產生嘔吐，及幼兒口服困難，改以注射劑投藥，製成硫酸小蘗鹼注射液(4)。然而，小蘗鹼經由注射給藥後，能否有效的達腸中？以何種生理途徑進入腸內呢？到達腸內其殺菌、整腸、止瀉的效果如何呢？是否具腸肝循環來維持腸內濃度而具殺菌效果呢？目前尙未有研究報告，因此，本研究乃針對此等問題之部份擬加以探究之。

關於藥品之腸肝循環及腸內分布的探討，依近代有關藥品動力學研究報告，可使用口服投與活性碳，以降低藥品再吸收及提高全身循環之清除率(5.6.7.)。因此，本研究擬以活性碳

作爲腸內藥品吸著劑，結合吸附進入腸腔之藥品，以觀察硫酸小蘗鹼經靜脈注射後，其腸胃道對藥品之吸收被抑制否？藥品全身循環之清除率提高否？來探討硫酸小蘗鹼經靜脈注射後之腸分布情形。

試驗材料及儀器

一、試　藥

本試驗中所使用之主要試藥如下所列：

鹽酸小蘗鹼(Berberine Hydrochloride)：Sigma Co ST. Louis，U.S.A. Lot.32F-01。

硫酸小蘗鹼注射液(Berberine Sulfate)(STOPNIN(R) Injection 10mg/2ml)：臺灣杏林製藥股份有限公司出品。

活性碳粉：和光試藥特級品

氰甲烷，二氯甲烷：皓峰公司出品之LC級試藥

Bacto Nutrient Broth Dehydrated：DIFCO Laboratories Detroit Michigan U.S.A.

二、儀　器

本試驗中所使用之主要儀器有：

高效液相層析儀(HPLC)：Shimadzu GE−LC System G−1，Shimadzu Co. Kyoto Japan其組件包括：

1. Solvent Delivery Module LC-6A for the Shimadzu High Performance Liquid Chromatograph；
2. SCL-6A Module System Controller；
3. Ultraviolet-Visible Spectrphotometric detector SPD-6AV Module for the Shimadzu High Performance Liqid chromatograph；
4. Chromatopac C-R3A；
5. Rheodyne 7125(loop 20μl) injector

   層析管(Column)：Hibar Lichro CART(R) 250-4 Lichrosorb(R) RP-8(7μm)及Lichro CART(R) 25-4 Lichrosorb(R) RP-8：E. Merk，Darmstadt，F.R. Germany.

二頻道多用途記錄儀(Polygrph；Multipurpose Recorder Twin)及Force-displacement Transducer Moder SB-IT：NIHON KOHDEN KOGYO Co. LTD JAPAN

三、試驗動物

本試驗所使用之動物均爲體重2−3kg健康的雄性紐西蘭白種家兔。

㈠體內試驗

1. 定量分析試驗

(1)高效液相層析(HPLC)之分析條件

本研究試驗中之液相層分析條件，係使用層析管柱：Lichrosorb(R)，RP−8(7 μm，250×4mm I.D.)及Precolumn Lighrosorb(R) Rp−8(25, 4mm I.D.)；移動相爲氰甲烷：由濃氨調整pH值爲3.5之0.1%(V/V)磷酸水溶液(70:30)；流速定爲1ml/min在紫外光檢驗波長330nm下偵測，敏感度3mv/full scall；記錄紙速3mm/min記錄之。

(2)鹽酸小蘗鹼(Berberine. HCl)標準溶液之配製

精稱鹽酸小蘗鹼50mg，置於100ml容量瓶內，加水稀釋得0.5mg/ml溶液(相當於小蘗鹼濃度0.4528mg/ml)，取本液1ml，置入50ml容量瓶中，加水稀釋得10 μg/ml溶液(相當於小蘗鹼濃度9.06 μg/ml)，再經連續稀釋，得鹽酸小蘗鹼濃度分別爲1，0.5，0.1，0.05，0.01 μg/ml之溶液(相當於小蘗鹼濃度分別爲0.9157，0.45，0.90，0.05，0.01 μg/ml)，以此作爲標準溶液。

(3)檢量線之製作

①小蘗鹼於家兎血清中檢量線之製作

以上述配製所得之標準溶液，濃度(10，1，0.1 μg/ml)者，分別精確量取50或25 μl加入0.500ml家兎血清，即得相當於小蘗鹼濃度爲823.33，431.27，431.27，82.33，43.13，8.23ng/ml 之血清檢品。於液面環做記號，混合振盪後，傾入另一試管，再加入相當於原量三倍量(1.5ml)之氰甲烷，混合振盪後，於3000rpm離心15分鐘，將上清液傾回原試管，用氮氣噴吹使氰甲烷逸離並使體積回原狀；經上述血清蛋白沉澱法處理後，即爲注入液相層析儀之標準濃度血清檢品。就層析圖中之小蘗鹼峰高與濃度間，求一迴歸直線，以此作爲血清檢品定量之檢量線。

②小蘗鹼於家兎膽汁中檢量線之製作

以上述配製所得之標準溶液，濃度(10，100 μg/ml) 者，分別精確量取10，20，40 μl，各加入0.200ml家兎膽汁，即得相當於小蘗鹼濃度爲0.5，1，5，10，20 μg/ml之膽汁檢品，混合振盪後，以二氯甲烷2ml分三次萃取小蘗鹼，收集合併二氯甲烷萃取液，用氮氣吹乾，之後加200 μl pH3.5之0.1%(V/V) 磷酸溶液，溶解混勻後，即爲注入液相層析儀之標準濃度血清檢品。就層析圖中之小蘗鹼峰高與濃度間，求一迴歸直線，以此作爲膽汁檢品定量之檢量線。

(4)定量分析之精確性試驗

①小蘗鹼於家兎血清中定量分析之精確性試驗

本試驗項目係爲確認處理血清檢品定量過程之精確性。分別在同日不同時(Intraday)及不同日(Interday)，以三種不同濃度(90.57，452.03，860.38ng/ml)

的鹽酸小蘗鹼溶液分析，依各次所得之檢量線求得檢出量。同一天中，三種濃度溶液於不同時間各做五次分析定量，並計算其平均值、標準偏差和分散係數；又在不同天以同法操作。比較其標準偏差和分散係數，並統計視其精確性。

②小蘗鹼於家兎膽汁中定量分析之精確性試驗

本試驗項目係爲確認膽汁檢品之萃取定量分析過程之精確性。除以相當於小蘗鹼濃度0.91，4.53，及9.06 μg/ml之三種鹽酸小蘗鹼溶液，依各次標準濃度膽汁檢品所製得之檢量線求得檢出量外，其它程序同於小蘗鹼於家兎血淸中定量分析之精確性試驗。

(5)小蘗鹼於家兎血淸、膽汁之回收率定量分析法

回收率乃在於比較小蘗鹼添加在血淸，膽汁和添加在空白檢品（水）中，經檢品處理步驟後之差異。其操作步驟同檢量線製作之檢品處理過程。回收率可由下式求得:

$$\%回收率=\frac{小蘗鹼於血淸（或膽汁）中之檢量線的斜率}{小蘗鹼於水中之檢量線的斜率}\times 100\%$$

(6)硫酸小蘗鹼注射液 (STOPNIN$^{(R)}$) 之含量測定

隨機取STOPNIN$^{(R)}$安瓿注射液，注入20 μl於液相層析儀，測定其含量。

2. 硫酸小蘗鹼之靜脈注射投藥與活性碳吸著試驗

本試驗使用 4 隻家兎爲試驗動物，試驗前禁食24小時，依隨機次序分爲實驗組（餵活性碳組）和對照組，間隔一星期後作交叉試驗。各組之處理步驟如下：

實驗組：利用熾熱法先將活性碳粉末活化，待冷却後，精稱5g，加水30ml迅速攪拌，立即用注射筒接胃插管由口灌餵家兎，其後即以劑量5mg/kg由耳靜脈注射STOPNIN$^{(R)}$，於注射後0.083，0.167，0.25，0.333，0.5，0.75，1，1.5，2，3，4，6，8，10，12，24 36小時，自異側耳靜脈採血0.8ml作爲檢品，血淸檢品經去蛋白後，以HPLC分析定量，可得硫酸小蘗鹼靜脈注射後之血中濃度經時變化數據。

對照組：除靜脈注射前不灌餵活性碳，而灌予30ml水外，其它步驟均同實驗組。

於一星期後，將對照組和實驗組（餵活性碳組）試驗動物交換，進行交叉試驗。由各血中濃度經時變化數據，求動力學叄數 (Parameters)，並統計其差異。

3. 硫酸小蘗鹼之靜脈注射，於膽汁中排泄之含量試驗

先將家兎禁食24小時。試驗時，把家兎固定於手術枱上，以劑量30mg/kg之Sodium pentobarbital經由靜脈注射麻醉，作腹腔切開術。依斜向膽囊方向在膽管接十二指腸處，插入一聚乙烯管作爲膽汁導管。先讓膽汁順流0.5小時，之後開始收集空白膽汁0.5小時，再以STOPNIN$^{(R)}$（劑量5mg/kg)由耳靜脈注射，其後每隔0.5小時收集膽汁於一試管內，共收集 6 小時。各支膽汁檢品以二氯甲烷2ml分三次萃取，合併二氯甲烷抽出液，用氮氣吹乾後，加pH3.5之0.1%(V/V)磷酸溶液200 μl ，溶解混勻，即

爲注入液相層析儀檢品，經分析定量，得硫酸小蘗儉靜脈注射後膽汁中之排泄含量。

4. 口服硫酸小蘗鹼之絕對生體可用率試驗

本試驗係使用4隻家兎，於試驗前禁食24小時，依隨機次序分爲靜脈注射組和口服組，間隔一星期後作交叉試驗。各組之處理步驟如下：

靜脈注射組：將家兎固定於木架內，以胃管經口給水30ml後，經由耳靜脈注射STOPNIN(R)（劑量5mg/kg)，於注射後0.083，0.167，0.25，0.333，0.5，0.75，1，1.5，2，3，4，6，8，10，12，14小時，自異側耳靜脈採血0.8ml，血液檢品經去蛋白處理後注入液相層析儀分析定量，可得硫酸小蘗鹼靜脈注射之血中濃度經時變化數據。

口服組：除將靜脈注射組處理步驟之靜脈注射STOPNIN(R)（劑量5mg/kg），改爲口服投藥外，其它步驟均同靜脈注射組。

由各隻家兎交叉試驗所得之口服和靜脈注射的血中濃度曲線下面積的比值可求得口服硫酸小蘗鹼之絕對生體可用率：

F=(AUC)oral/(AUC)iv　　F：絕對生體可用率

(二)體外試驗

1. 定量分析試驗

①鹽酸小蘗鹼標準濃度溶液檢量線之製作

如鹽酸小蘗鹼標準溶液之配製，配製成濃度分別爲2，1，0.5，0.1，0.05μg/ml之鹽酸小蘗鹼溶液，此即爲注入液相層析儀檢品，由液相層分析圖中，小蘗儉峰高與濃度間，求一迴歸直線，以此作爲鹽酸小蘗鹼標準濃度溶液之檢量線。

②鹽酸小蘗鹼溶液定量分析之精確性試驗

本試驗係爲確認鹽酸小蘗鹼溶液於不同時間定量分析之精確性。除了以濃度0.03，0.1，1μg/ml的鹽酸小蘗鹼溶液，依各次所得鹽酸小蘗鹼標準濃度之檢量線求得檢量線外，其它程序同於小蘗鹼於家兎血清中定量分析之精確性試驗。

2. 活性碳對小蘗鹼吸著之體外試驗

①不同量之活性碳對同濃度鹽酸小蘗鹼之吸著試驗(8)

將濃度0.1%(W/V)之鹽酸小蘗鹼溶液，每25ml分置於一個燒杯中，各加入不同量（0，0.1，0.15，0.2，0.25，0.5，1.0，2.5，2.75，3，5，10g）經熾熱法活化後的活性碳粉末，混搖後靜置28分鐘，再以濾紙過濾，取濾液作爲注入液相層析之檢品，經分析定量，可得不同量之活性碳對同濃度鹽酸小蘗鹼之吸著情形。

②活性碳對鹽酸小蘗鹼，在不同酸鹼值下之吸著試驗

本實驗方法係取燒杯3個，各置水300ml，分別以鹽酸、氫氧化鈉溶液調整酸鹼值爲pH3.0，5.8，8.0。以下續分A、B、C三組處理之：

A組一精確稱取鹽酸小蘗鹼100mg，置於100ml容量瓶內，用已調整之pH3.0水溶

液來稀釋，成爲濃度爲1mg/ml之鹽酸小蘗鹼溶液，由本液分別精確量取25，20，15，10，5，10.5ml，分置於25ml之容量瓶內，再加pH3.0水溶液至25ml，得濃度1，0.8，0.6，0.4，0.2，0.04，0.02mg/ml 鹽酸小蘗鹼溶液。分別將之傾入另一燒杯內，再精確稱取經熾熱法活化之活性碳1g加入燒杯中，混搖後靜置20分鐘，用濾紙過濾，取濾液作爲注入液相層析儀檢品。

B組一處理步驟，除稀釋溶液採已調整之pH8.0水溶液外，其餘皆同A組所述。

C組一處理步驟，除稀釋溶液採已調整之pH5.8水溶液外，其餘皆同A組所述。

由A、B、C三組所得HPLC檢品，分析定量後，可得在不同酸鹼值下，單位量活性碳對鹽酸小蘗鹼吸著情形；就鹽酸小蘗鹼被吸附量對吸著平衡之濃度作吸附等溫線並比較之。

3. 鹽酸小蘗鹼之抗菌試驗(9)

本試驗使用菌種爲本院微生物科提供之金黃色葡萄球菌(Staphylococcus aureus)，枯草桿菌(Bacillus sabtilis)，大腸桿菌(Escherichia coli)。首先配製營養液體培養基(Nutrient broth)：精確稱取營養液體培養基粉末1.6g，加水200ml溶解，用1N氫氧化鈉溶液調整pH值爲7.2－7.4。

取試管三支，分別加營養液體培養基2ml，置入高壓蒸氣滅菌器，以121°C，15 分鐘滅菌之。

將滅菌後之營養液體培養基試管，分別接種三菌種，混搖均勻後，於恒溫(37°C)培養18小時，即爲待用之接種液。

用滅菌後之營養液體培養基液，稀釋配製鹽酸小蘗鹼成一系列濃度標準溶液（依二倍逐級稀釋，濃度爲200，100，50，25，12.5，6.25μg/ml）

各菌種之試驗法如下：

在無菌操作下，將各種濃度之標準溶液各取1ml注入試管內，並列爲一排。

另取一支試管，注入不含鹽酸小蘗鹼之營養液體培養基液，以資對照，每支試管內滴加接種液0.05ml，置於恒溫(37°C）培養箱內培養18小時後，觀察試管內菌種增值情形，其適足抑制菌種增值之最低濃度，即爲最低抑菌濃度(Minimum Inhibitory Concentration，M.I.C.)(9)。

4. 硫酸小蘗鹼對家兎小腸平滑肌之影響

試驗前，家兎禁食24小時。由後腦部將其擊昏，剪去下腹部的毛，劃開腹部於近迴盲處（ileocecal junction），切取約20公分長的迴腸(ileum)，把這條迴腸切成3公分長腸段，洗淨，貯存於通有氧氣的Tyrode 氏溶液，並使之水浴，維持溫度於37°C。將腸段兩端以魚鈎鈎牢，置於Magnus器官槽內，一端固定，一端繫於麥桿(level)上，器官槽內盛以Tyrode氏溶液20ml，通入氧氣且調節其水浴使保持在37°C，以多用途記錄器(Polygraph)來記錄腸的收縮狀況。

調節多用途記錄器於Gain(6dB)×1，記錄紙速爲10mm/min，加張力(tension)1g，待組織標本之運動性穩定後開始記錄。首先記錄未加藥前之收縮情形約20分鐘，再每隔10分鐘，依序以二倍逐級增量方式給硫酸小蘗儉(STOPNIN®)，(濃度5mg/ml)1，2.5，5，10，20，40，80，160，320μl，使組織浴中硫酸小蘗鹼濃度依序加成爲0.005，0.0125，0.025，0.05，0.1，0.2，0.4，0.8，1.6mg/20ml bath，如此使用5隻家兎重覆試驗。由記錄圖中，未給藥和給各種濃度藥量期間收縮波圖之最大振幅來比較，可知硫酸小蘗儉對迴腸平滑肌之影響情形。

㈢藥品動力學叁數分析

1. 先由藥物血中濃度對時間變化圖之末端直線部分的測定值（藥物血中濃度、時間），利用最小二乘法線性迴歸，求得$Cp=Bc^{-\beta t}$
2. 從藥物血中濃度對時間變化曲線之開頭至下彎部份，計算Cs−Cp，再迴歸求得 $C\alpha=Ae^{-\alpha t}$
3. 全部曲線近似方程式爲$Cs=C\alpha+C\beta=Ae^{-\alpha t}$
4. 由所求得之A、B、α、β、代入PCNONLIN作curve fitting，解析得動力學叁數A、B、α、β、AUC、T1/2(α)、T1/2(β)、k_{10}、K_{12}、K_{21}、C_{PO}、V_1、V_2、V_{SS}、Cl。

α：藥物在分布相之速率常數

β：藥物在消失相之速率常數

AUC：藥物血中濃度對時間曲線下面積

T1/2(α)：藥物在分布相之半衰期

T1/2(β)：藥物在消失相之半衰期

K_{10}：藥物從中央室消失之速率常數

K_{12}：藥物從中央室向末稍室移行之速率常數

K_{21}：藥物從末稍室向中央室移行之速率常數

C_{PO}：注射後瞬間時之最初血中藥物濃度

V_1：藥物在中央室之擬似分布體積

V_2：藥物在末稍室之擬似分布體積

V_{SS}：體內藥物分佈達穩定狀態時之分布體積

Cl：出清率；爲投藥劑量與藥物血中濃度對時間曲線下面積之比值Cl=D/AUC，

D：投藥劑量

㈣統計學分析

1. 定量分析之精確性

分別就三種不同濃度檢品，各自於不同時間之檢出量，以One−Way ANOVA法來檢定其間差異之顯著性。

2. 口服投與活性碳與否之硫酸小虆檢靜脈注射後動力學叁數，血中濃度對時間曲線下面(AUC)，清除率(Cl)，半衰期(T1/2)，以Two-Way ANONA法來檢定其間差異之顯著性。

3. 硫酸小虆檢對家兎小腸平滑肌之影響

各種藥量之影響於統計上是否有意義，係以paired t-test檢定之。

以上均以P值小於0.05時，始認爲在統計上見有顯著差異。

試驗結果

一、體內試驗

(一)定量分析方面

1. 血清檢品於高效液相層析法之分析

如圖1所示，血清檢品經去蛋白後，注入液相層分析，層析圖中，小虆檢層析峰在檢品注入後約8分鐘左右出現，而在波長330nm下偵測，血清含有成份和小虆檢層析峰分開較明顯。

2. 小虆檢於家兎血清中之檢量線

由五種濃度之血清檢品製得的檢量線，如圖2，其直線相關係數(γ)大於0.99。

3. 小虆檢於家兎血清中定量分析之精確性

三種不同濃度檢品(Spiked Concentration Sample)，於同日不同時及不同日之檢驗結果如表1，檢出量的變異係數皆低於10%，唯在不同日間變異較大；各濃度在同日不同時及不同日之檢出量，經One-Way ANOVA檢測後，P值均大於0.05，即各次檢量在統計上無顯著差異。

4. 膽汁檢品於高效液相層析法之分析

如圖3所示，膽汁檢品經萃取抽提步驟處理後，注入液相層分析，層析圖中小虆檢層析峰在檢品注入後約8公分左右出現，且膽汁內含成分在注入液相層析後即被分離出來，且與小虆檢層析峰分離明顯。

5. 小虆檢於家兎膽汁中之檢量線

由五種濃度之膽汁檢品製得的檢量線示於圖4，其直線相關係數(γ)大於0.99。

6. 小虆檢於家兎膽汁中定量分析之精確性

由三種不同濃度檢品，於同日不同時及不同日之檢析結果，如表2所示，各濃度檢出值之變異係數皆低於10%；各濃度之檢出量，經One-Way ANOVA統計後，P值亦大於0.05。

7. 小虆檢於血清，膽汁中之回收率

血清檢品去蛋白的處理後之回收率達88.6%。膽汁檢品經萃取抽提步驟處理後之回收率約83.5%

8. 硫酸小蘗鹼注射液(STOPNIN(R))之含量

隨機取樣檢測結果均在98%以上。

(二)硫酸小蘗鹼之靜脈注射投藥與活性碳吸著試驗

試驗結果，4隻家兎之對照組（不給活性碳，僅靜脈注射）和實驗組（餵活性碳且靜脈注射）的血中濃度經時變化示於表4及圖5。所得數據經PCNONLIN進行Curve fitting，以Two-comparment model解析較適合，經計算所得之動力學叄數如表5。清除率(Cl)由投藥量對投藥後經時血中濃度曲線下面積之比值求得。

由交叉試驗前後，有否投與活性碳之硫酸小蘗鹼靜脈注射之血中濃度對時間曲線下面積（AUC），清除率(Cl)，半衰期(t1/2)分別以Two-Way ANOVA檢定，其P值皆大於0.05；如表5所示。有否投與活性碳其硫酸小蘗鹼靜脈注射後之系統吸收，淸除率，半衰期，在統計上無明顯差異。

(三)硫酸小蘗鹼經靜脈注射，於膽汁中之排泄含量

靜脈注射硫酸小蘗鹼後，由膽管挿管引流收集之膽汁，經處理分析定結果，含量如表6及圖6所示；在最初之0.5小時，膽汁中小蘗鹼排泄量最高，幾乎佔總排泄量的75%。又含量與投量之百分比值示如表7及圖7，結果顯示膽汁中小蘗鹼總含量佔投藥原量之0.27%。

(四)口服硫酸小蘗鹼之絕對生體可用率

本項試驗未能得到良好之小蘗鹼血中濃度經時變化曲線，口服投與劑量5mg/kg後之血中濃度極低，如表8及圖8所示。又在試驗中發現，口服投藥與家兎，於試驗第二天發生肛門大量出血、腸脫垂、潰爛等現象，繼而死亡。爲求較佳之口服後血中濃度經時變化曲線，加大劑量爲10mg/ml及15mg/kg，取4隻家兎重作試驗，口服後之經時血中濃度變化示於表8及圖9，其小蘗鹼血中濃度較投與劑量5mg/kg者高，然亦未能得到良好的血濃度經時變化曲線。如同投藥劑量爲5mg/kg時之情況，口服投藥之家兎均在試驗後第二天或第三天發生病變如前述，而凡以靜脈注射給藥之家兎，於試驗後仍健康無恙，再先後將STOPNIN(R)以劑量1mg/kg、3mg/kg口服投與家兎4隻，試驗後未發生病態現象。

口服投藥試驗中，由於低劑量時小蘗鹼血中濃度太低，定量誤差大，未能得良好的血中濃度經時變化曲線，高劑量雖可提高小蘗鹼血中濃度，却發生試驗動物病變現象，是以無法經由交叉試驗求得口服投藥之絕對生體可用率。

二、體外試驗

(一)定量分析方面

1. 鹽酸小蘗鹼標準濃度溶液之檢量線

如圖10所示，爲鹽酸小蘗鹼標準溶液之五種濃度求得檢量線。其直線相關係數（γ）大於0.99。

2. 鹽酸小蘗鹼溶液於HPLC定量之精確性

由三種不同濃度檢品，於同日不同時及不同日檢析結果如表9，低濃度(0.03 μg/ml)檢出值之變異係數大於10%；而中、高濃度檢品之檢出值皆小於10%，雖低濃度測定偏差大，但就各濃度檢品之檢出值經One-Way ANOVA檢定；其P值均大於0.05，於統計上，各次檢量間並無顯著差異。

(二)活性碳對小蘗鹼吸著之體外試驗

1. 不同量之活性碳對同濃度鹽酸小蘗鹼之吸著情形

未加活性碳之鹽酸小蘗鹼溶液（濃度10 μg/ml，1 μg/ml），經濾紙過濾後之濾液，以液相層析定量所得濃度分別為9.99，0.98 μg/ml，即過濾步驟對鹽酸小蘗鹼溶液的濃度影響很小，是以將之忽略，在活性碳對鹽酸小蘗鹼之吸附量計算中不計入過濾步驟之耗損量。本試驗後，鹽酸小蘗鹼之被吸附量及吸附平衡時濃度，示於表10，就兩者間關係作一吸附等溫線如圖11。

其圖近似Langmuir吸附等溫圖，初始曲線急速上升，達飽和後趨於平緩。

2. 活性碳對鹽酸小蘗鹼，在不同酸鹼值下之吸著情形

在pH3.0，5.8，8.0條件下濃度1～0.02mg/ml之鹽酸小蘗鹼溶液，各加入1g 量活性碳後，過濾所得之濾液，經定量得被活性碳吸附後之剩餘濃度，將原溶液小蘗鹼量減去吸附後之剩餘小蘗鹼量，即被吸附量，結果如表11。又於不同酸鹼值下之吸附等溫線如圖12所示。

(三)鹽酸小蘗鹼之抗菌作用

系列濃度（200～6.25 μg/ml）之鹽酸小蘗鹼對枯草桿菌、大腸桿菌、金黃色葡萄球菌生長的抑制情形，示如表12，顯示其最低抑菌濃度分別為100−50，100，50−25 μg/ml。

(四)硫酸小蘗鹼對家兎小腸平滑肌之影響

經由硫酸小蘗鹼以二倍逐級增量方式給藥，測家兎迴腸段之收縮運動性之結果顯示，小蘗儉可影響家兎迴腸平滑肌的運動性，且不同濃度其效應不同。如圖13圖14表13所示，加於組織浴(20ml)中之硫酸小蘗鹼量低時即有興奮作用，繼續增量其收縮亦增大，至0.1 mg/20ml組織浴以上藥量則有鬆弛趨向，至0.4或0.8，1.6mg/20ml組織浴時則完全麻痺了。

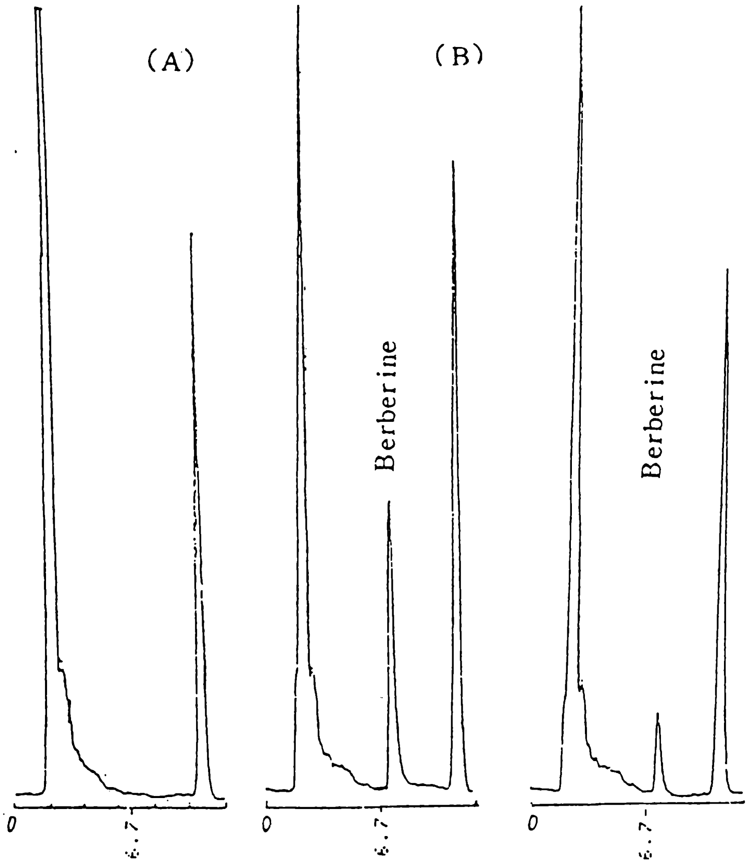

圖1 含小蘗鹼之家兎血清檢品層析圖

分離管柱：LiChrosorb® RP－8 （7μm；25cm×4mm I.D.；5cm×4mm I.D.）；
移動相：CH_3CN：0.1%（v／v）H_3PO_4 水溶液（pH3.5）＝70：30；
流速：1ml／min ；檢測器：UV330nm ；衰減值：3；記錄紙速：3mm/min
(A)空白血清檢品；(B)含小蘗鹼（823.33 ng／ml ）標準濃度血清檢品；
(C)含小蘗鹼（431ng／ml）之血清檢品。

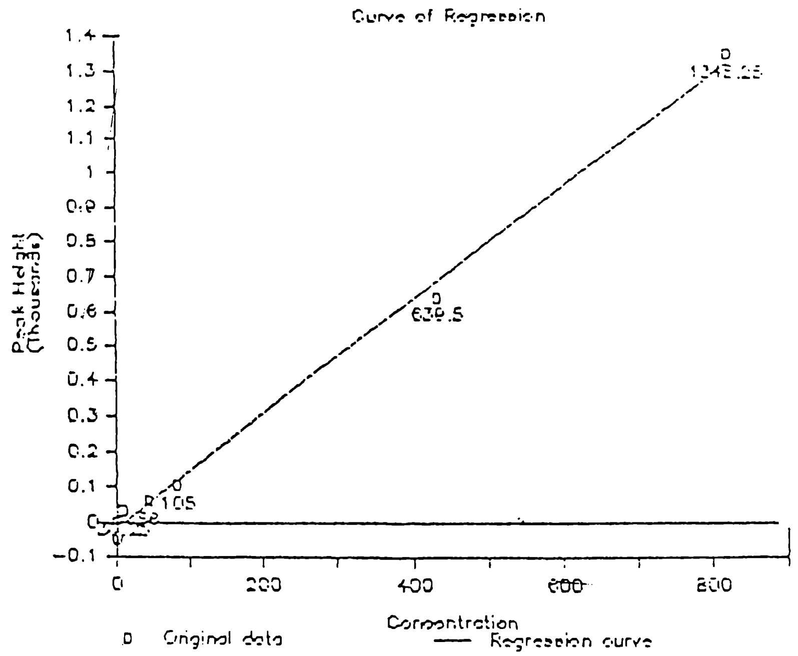

圖2 小檗鹼於家兔血清中之檢量線

表1 小檗鹼於家兔血清中定量分析之精確性

Spike Conc. (ng/ml)	Measured Conc. (ng/ml)					Mean (ng/ml)	S.D.	C.V. (%)
	Intraday run-1	run-2	run-3	run-4	run-5			
90.57	91.45	92.68	92.68	89.69	93.91	92.08	1.43	1.55
452.83	446.11	452.61	450.02	453.75	457.29	451.96	3.74	0.83
860.38	856.70	881.40	876.19	861.25	864.10	867.93	9.33	1.07
90.57	92.99	90.07	91.92	92.85	91.30	91.83	1.07	1.17
452.83	446.93	440.35	436.51	440.49	442.67	441.39	3.41	0.77
860.38	854.48	861.49	858.88	877.76	850.22	860.57	9.42	1.09
	Interday Day-1	Day-2	Day-3	Day-4	Day-5			
90.57	94.28	94.02	85.58	105.50	110.66	98.01	8.95	9.13
452.83	446.12	476.31	420.47	501.82	524.22	497.79	37.27	7.49
860.38	816.70	879.66	767.35	964.85	981.71	882.05	82.73	9.38

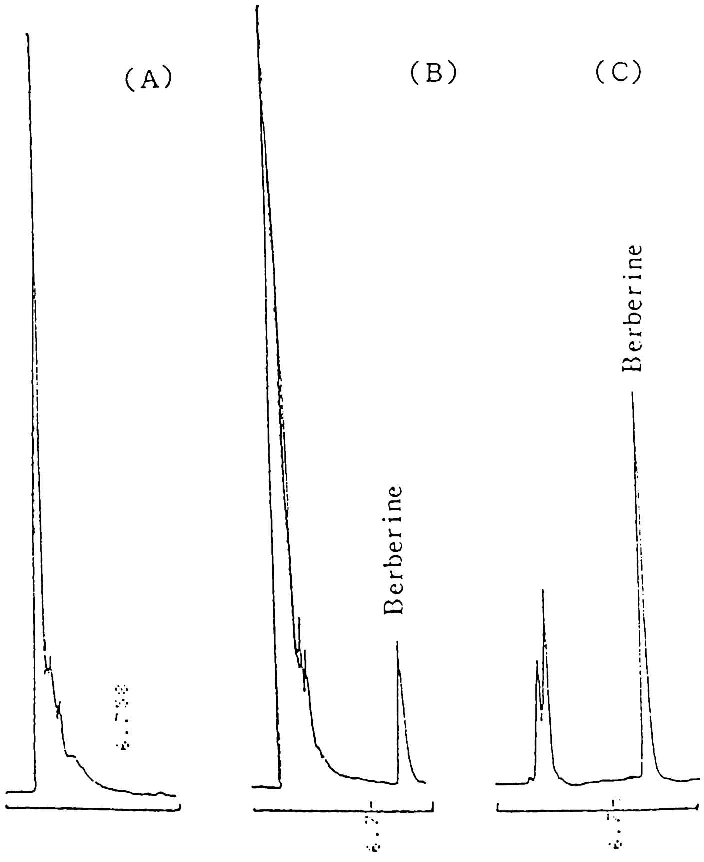

圖3 含小蘗鹼之家兔膽汁檢品層析圖

分離管柱：LiChrosorb® RP－8 （7 μm ； 25 cm×4mm I.D. ； 5 cm×4mm I.D.）；

移動相：CH_3CN：0.1％（v／v）H_3PO_4水溶液（pH3.5）＝70：30；

流速：1ml／min ；檢測器：UV330nm ；衰減值：3 ；記錄紙速：3 mm／min

(A)空白膽汁檢品；(B)含小蘗鹼（5 μg／ml）標準濃度膽汁檢品；

(C)含小蘗鹼（12 μg／ml）之膽汁檢品。

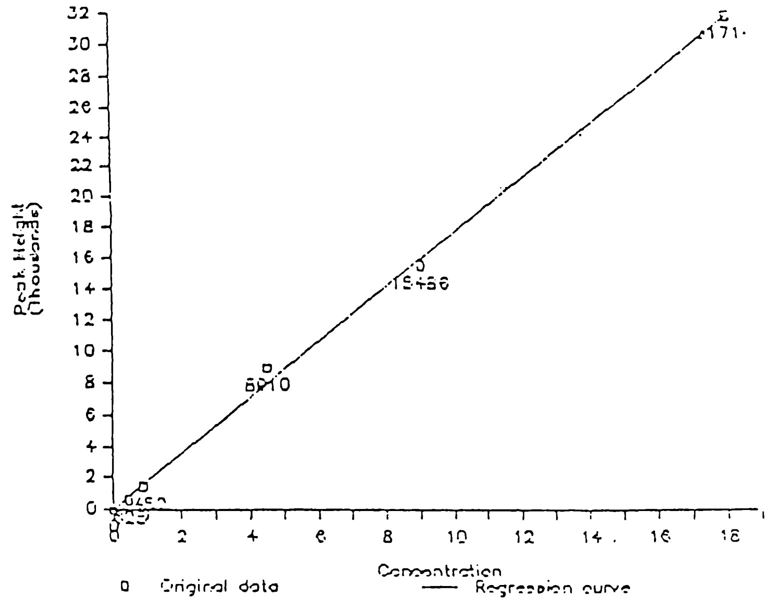

圖4　小蘗鹼於家兎膽汁中之檢量線

表2　小蘗鹼於家兎膽汁中定量分析之精確性

Spike Conc. (μg/ml)	Measured Conc. (μg/ml)					Mean (μg/ml)	S.D.	C.V. (%)
	Intraday							
	run-1	run-2	run-3	run-4	run-5			
0.91	0.88	0.88	0.92	0.91	0.90	0.90	0.01	1.90
4.53	4.46	4.66	4.53	4.24	4.56	4.49	0.14	3.17
9.06	9.16	8.75	9.01	8.90	9.25	9.01	0.18	1.90
0.91	0.88	0.90	0.91	0.89	0.91	0.90	0.01	1.43
4.53	4.57	4.61	4.34	4.59	4.56	4.53	0.10	2.21
9.06	9.02	9.35	9.21	8.98	9.46	9.21	0.19	2.01
	Intraday							
	Day-1	Day-2	Day-3	Day-4	Day-5			
0.91	0.89	0.86	0.91	0.86	0.96	0.90	0.04	4.09
4.53	4.31	4.77	4.57	3.99	4.03	4.34	0.31	7.00
9.06	8.48	9.55	7.71	8.87	9.68	8.86	0.72	8.14

表3 有否投與活性碳之硫酸小蘗鹼靜脈注射(劑量5mg/Kg)後的血清中小蘗鹼濃度(ng/ml)

TIME	Subject 1	Subject 2	Subject 3	Subject 4		
hrs	Control	Control	Control	Control	Mean	S.D.
0.083	597.18	482.79	396.45	664.99	535.35	103.30
0.167	345.73	325.15	269.09	365.93	326.48	36.13
0.25	292.15	234.75	164.45	352.66	261.00	69.61
0.333	282.35	151.00	86.90	267.02	196.82	81.28
0.5	243.12	87.84	67.02	254.68	163.17	86.15
0.75	240.67	84.44	76.63	214.18	153.98	74.09
1	212.65	74.65	45.61	182.77	128.92	70.35
1.5	200.67	66.65	45.34	177.88	122.64	67.55
2	187.09	60.06	47.58	170.90	116.41	63.00
3	184.29	49.26	43.86	168.34	111.44	65.15
4	156.27	41.07	42.77	135.29	93.85	52.46
6	106.54	38.67	41.68	114.58	75.37	35.32
8	138.41	36.27	30.97	96.19	75.46	44.46
10	104.00	21.88	22.89	73.15	55.48	34.85
12	87.63	8.09	17.65	55.93	42.33	31.70
24	59.62	—	8.04	14.03	20.42	23.17
36	7.78	—	7.16	11.24	6.55	4.09
hrs	Charcoal	Charcoal	Charcoal	Charcoal	Mean	S.D.
0.083	722.83	713.10	703.62	300.77	610.08	178.71
0.167	364.66	618.54	380.12	219.50	395.71	143.10
0.25	225.16	448.03	368.25	206.18	311.91	100.51
0.333	183.77	417.88	314.96	171.66	272.07	101.22
0.5	146.77	317.02	289.13	162.27	228.80	75.13
0.75	144.94	263.43	249.56	156.15	203.52	53.35
1	122.78	224.91	229.08	130.37	176.79	50.30
1.5	88.35	225.61	183.00	120.50	154.37	53.39
2	71.69	178.33	168.00	107.43	131.36	43.82
3	69.86	146.82	147.39	80.35	111.11	36.19
4	43.30	117.05	146.46	74.88	95.42	39.14
6	22.42	91.13	102.24	46.70	65.62	32.47
8	32.50	56.81	101.54	25.08	53.98	29.86
10	16.85	56.46	99.68	17.21	47.55	34.13
12	3.01	45.61	80.83	8.47	34.48	31.38
24	9.79	20.74	27.53	12.41	17.62	7.01
36	2.83	—	6.81	1.05	2.67	2.59

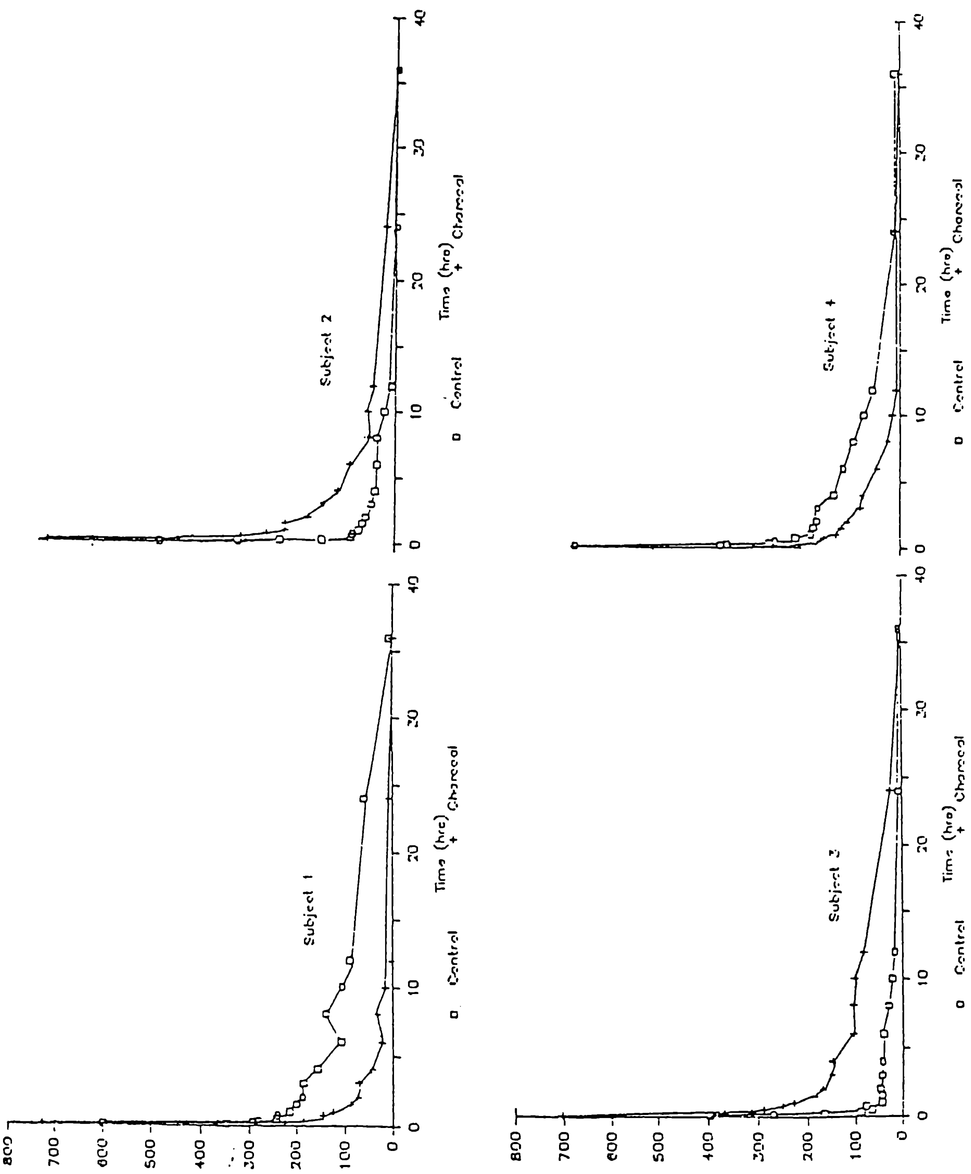

圖5 有否投與活性碳之硫酸小蘗鹼靜脈注射（劑量5mg/kg)後，血清中小蘗鹼濃度

表4 硫酸小蘗鹼靜脈注射（劑量5mg/kg）後之藥品動力學參數

Pharmacokinetic Parameter	Subject 1		Subject 2		Subject 3		Subject 4	
	Control	Charcoal	Control	Charcoal	Control	Charcoal	Control	Charcoal
A(ng/ml)	433.27	460.14	715.90	657.06	305.59	413.26	697.83	201.44
B(ng/ml)	227.06	235.85	77.67	262.38	53.13	251.10	219.26	173.12
Alpha(hr^{-1})	6.03	5.75	6.45	4.14	4.59	4.24	7.22	6.86
Beta(hr^{-1})	0.08	0.71	0.13	0.18	0.08	0.12	0.11	0.23
AUC(ng·hr/ml)	2682.12	412.88	714.67	1637.43	718.74	2116.86	2111.81	770.43
$T_{1/2}(\alpha)$(hr)	0.12	0.12	0.11	0.17	0.15	0.16	0.10	0.10
$T_{1/2}(\beta)$(hr)	8.58	0.98	5.39	3.91	8.51	5.57	6.37	2.97
K_{10}(1/hr)	0.23	1.69	1.11	0.56	0.50	0.31	0.43	0.49
K_{12}(1/hr)	3.75	2.36	4.72	2.45	3.42	2.37	5.08	3.31
K_{21}(1/hr)	2.12	2.42	0.74	1.31	0.75	1.68	1.81	3.29
$C_{p,o}$(ng/ml)	660.32	695.99	793.57	919.44	358.72	664.36	917.09	374.56
V_1(l)	22.72	21.56	18.90	16.31	41.82	22.58	16.36	40.05
V_2(l)	40.19	21.03	120.55	30.50	190.70	31.85	45.92	40.29
Vss(l)	62.91	42.59	139.45	46.81	232.52	54.43	62.28	80.34
$C\ell$(l/hr)	5204.50	36330.17	20988.71	9160.70	20869.86	7085.97	7102.91	19469.65

表5　有否投與活性碳之硫酸小檗鹼靜脈注射（劑量5mg/kg）後的經時血中濃度曲線下面積(AUC)，清除率(Cl)，半衰期（T1/2）。

Subject	AUC(ng·hr/ml)		Clearance(ml／Kg·hr)		T½ (hr)	
	Control	Charcoal	Control	Charcoal	Control	Charcoal
1	1784.68	412.88	8404.87	36330.17	1.58	0.41
2	714.67	1084.25	20988.71	13834.45	0.62	1.12
3	718.74	2116.86	20869.86	7085.97	1.39	2.21
4	1714.75	770.43	8747.63	19469.65	1.6	1.43
Mean	1233.21	1096.105	14752.76	19180.06	1.276	1.2925
S.D.	517.10	635.40	6177.85	10828.81	0.40	0.65
C.V.	41.93	57.97	41.88	56.46	31.32	49.98
F	NS		NS		NS	

NS: NO statistically significant difference ($P > 0.05$; Two Way ANOVA)

表6 硫酸小蘗鹼靜脈注射（劑量5mg/kg)後，小蘗鹼於膽汁中之排泄含量（μg）。

Time (hr)	Subject 1	Subject 2	Mean	(S.D.)
0.5	27.87	29.56	28.72	0.84
1.0	4.81	5.82	5.32	0.50
1.5	0.76	1.14	0.95	0.19
2.0	0.54	1.07	0.80	0.26
2.5	0.51	0.73	0.62	0.11
3.0	0.43	0.58	0.50	0.08
3.5	0.36	0.51	0.44	0.07
4.0	0.35	0.25	0.30	0.05
4.5	0.34	0.25	0.29	0.05
5.0	0.32	0.19	0.25	0.07
5.5	0.28	0.16	0.22	0.06
6.0	0.23	0.14	0.18	0.05

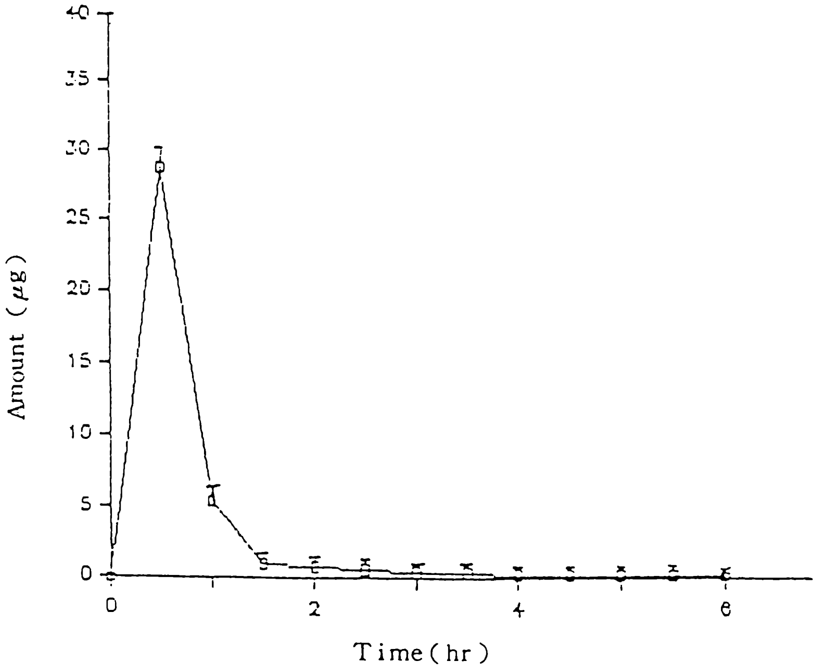

圖6 硫酸小蘗鹼靜脈注射（劑量5mg/kg)後，小蘗鹼於膽汁中之平均排泄含量

表7 硫酸小蘗鹼靜脈注射（劑量5mg/kg)後，膽汁中小蘗鹼對投藥劑量之累積百分比。

Time (hr)	Subject 1	Subject 2	Mean	(S.D.)
0.5	0.1991	0.1971	0.1981	0.0010
1.0	0.2335	0.2359	0.2347	0.0012
1.5	0.2389	0.2435	0.2412	0.0023
2.0	0.2427	0.2506	0.2467	0.0039
2.5	0.2464	0.2555	0.2509	0.0045
3.0	0.2494	0.2593	0.2544	0.0050
3.5	0.2520	0.2628	0.2574	0.0054
4.0	0.2545	0.2644	0.2595	0.0049
4.5	0.2570	0.2661	0.2615	0.0046
5.0	0.2592	0.2673	0.2633	0.0040
5.5	0.2612	0.2683	0.2648	0.0036
6.0	0.2629	0.2693	0.2661	0.0032
Total (%)	0.2629	0.2693	0.2661	0.0032

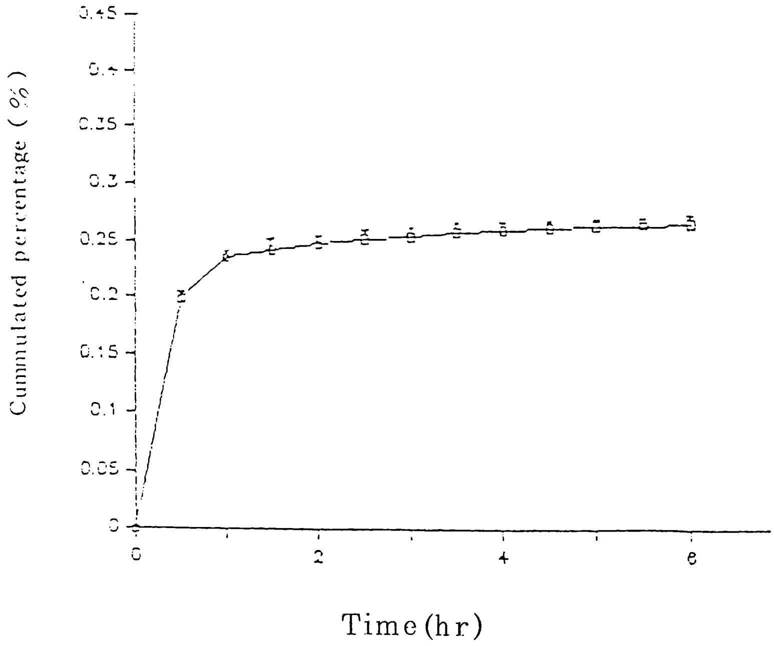

圖7 硫酸小蘗鹼靜脈注射（劑量5mg/kg）後，膽汁中小蘗鹼對投藥劑量之平均累積百分比。

表8 硫酸小蘗鹼以劑量5mg/kg或15mg/kg靜脈注射或口服後之血清中小蘗鹼濃度（μg/ml）

Time	Dose=5 mg/Kg			Dose=15 mg/Kg			
hrs	A(p.o.)	B(i.v.)	C(p.o.)	D(p.o.)	E(i.v.)	F(p.o.)	G(i.v.)
0.083	0.02	0.56	0.04	0.01	1.98	0.11	1.49
0.167	0.01	0.55	0.03	—	0.91	0.12	0.83
0.25	—	0.28	0.02	0.12	0.89	0.21	0.73
0.333	—	0.24	0.06	0.02	0.90	0.21	0.70
0.5	0.00	0.23	0.06	—	0.90	0.18	0.69
0.75	0.01	0.23	0.05	0.01	0.89	0.18	0.68
1	0.05	0.22	0.05	0.00	0.78	0.20	0.59
1.5	0.01	0.22	0.04	0.01	0.67	0.18	0.52
2	—	0.19	0.01	0.21	0.63	0.18	0.43
3	0.00	0.17	0.04	—	0.51	0.11	0.39
4	—	0.15	0.02	—	0.31	0.11	0.34
6	—	0.14	0.01	0.04	0.36	0.13	0.31
8	0.01	0.14	0.02	0.13	0.26	0.11	0.26
10	0.03	0.12	0.05	0.04	0.22	0.12	0.16
12	0.04	0.10	0.05	0.06	0.12	0.12	0.13
24	0.02	0.04	0.02	0.04	0.02	0.07	0.12

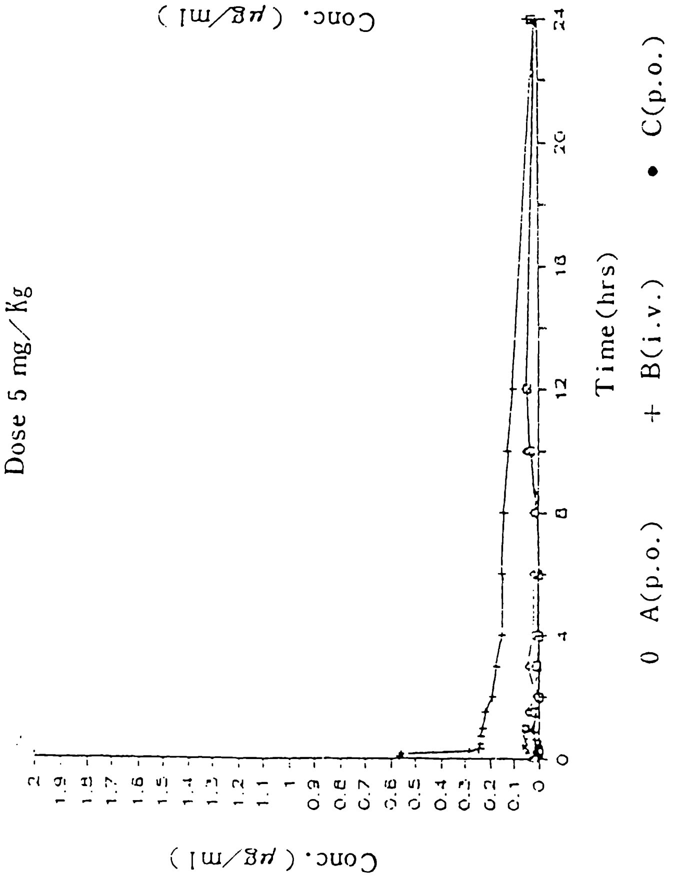

圖8 硫酸小蘗鹼以劑量5mg/kg靜脈注射或口服後之血清中小蘗鹼濃度。

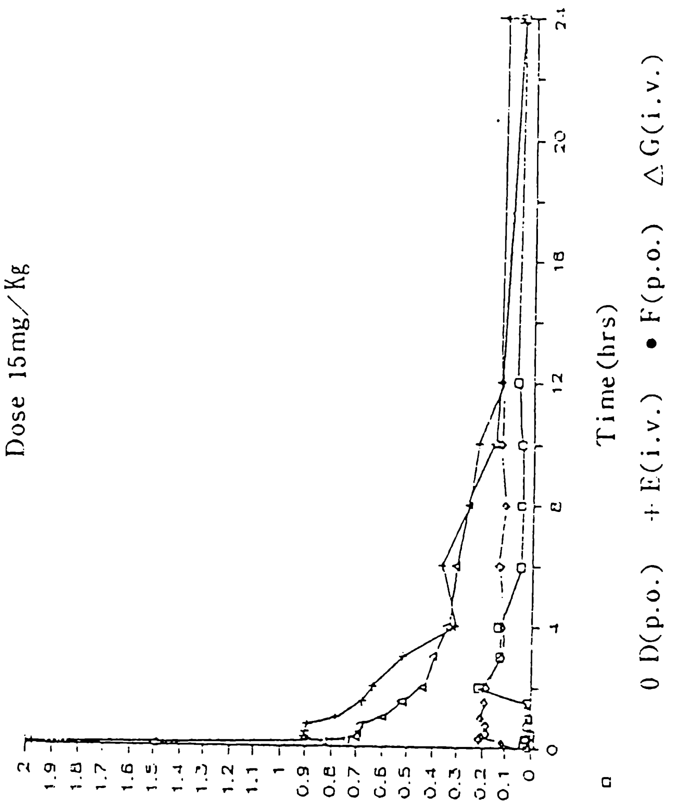

圖9 硫酸小蘗鹼以劑量15mg/kg靜脈注射或口服後之血清中小蘗鹼濃度。

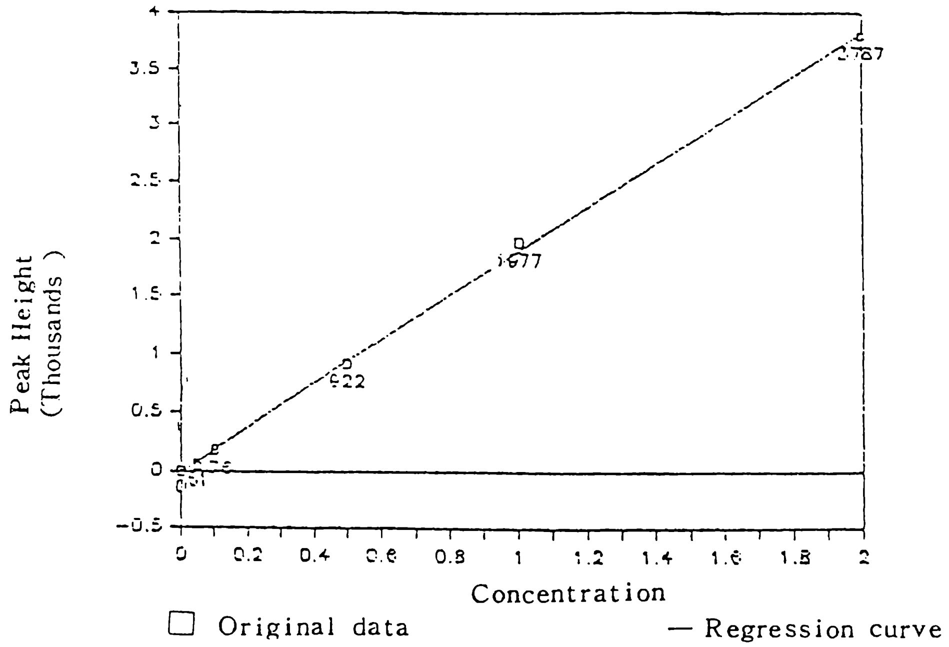

圖10 鹽酸小蘗鹼標準濃度溶液之檢量線

表9 鹽酸小蘗鹼溶液於HPLC定量之準確性

Spike Conc. (μg/ml)	Measured Conc. (μg/ml)					Mean (μg/ml)	S.D.	C.V.(%)
	Intraday							
	run-1	run-2	run-3	run-4	run-5			
0.03	0.01	0.01	0.02	0.03	0.02	0.02	0.00	18.98
0.1	0.09	0.09	0.09	0.10	0.10	0.09	0.00	4.27
1	0.98	1.02	0.99	1.01	1.12	1.02	0.05	4.94
0.03	0.01	0.01	0.02	0.02	0.03	0.02	0.00	28.06
0.1	0.10	0.09	0.09	0.10	0.11	0.10	0.00	4.20
1	1.02	1.15	1.10	1.11	1.12	1.10	0.04	3.76
	Intraday							
	Day-1	Day-2	Day-3	Day-4	Day-5			
0.03	0.03	0.01	0.02	0.01	0.03	0.02	0.00	33.94
0.1	0.08	0.09	0.10	0.11	0.10	0.10	0.00	7.80
1	1.02	0.99	1.16	1.00	1.17	1.07	0.07	7.38

表10　室溫下，活性碳對鹽酸小蘗鹼之吸附

Charcoal (g)	Concentration (μg/ml)	Amount Adsorbed/charcoal (mg/g)
0.1051	9.96	235.4972
0.1509	3.96	165.0153
0.2095	0.92	119.2219
0.2535	0.78	98.5418
0.5068	0.54	49.3020
1.0586	0.45	23.6054
2.5065	0.47	9.9693
2.7508	0.34	9.0851
3.0069	0.34	8.3113
5.0049	0.34	4.9934

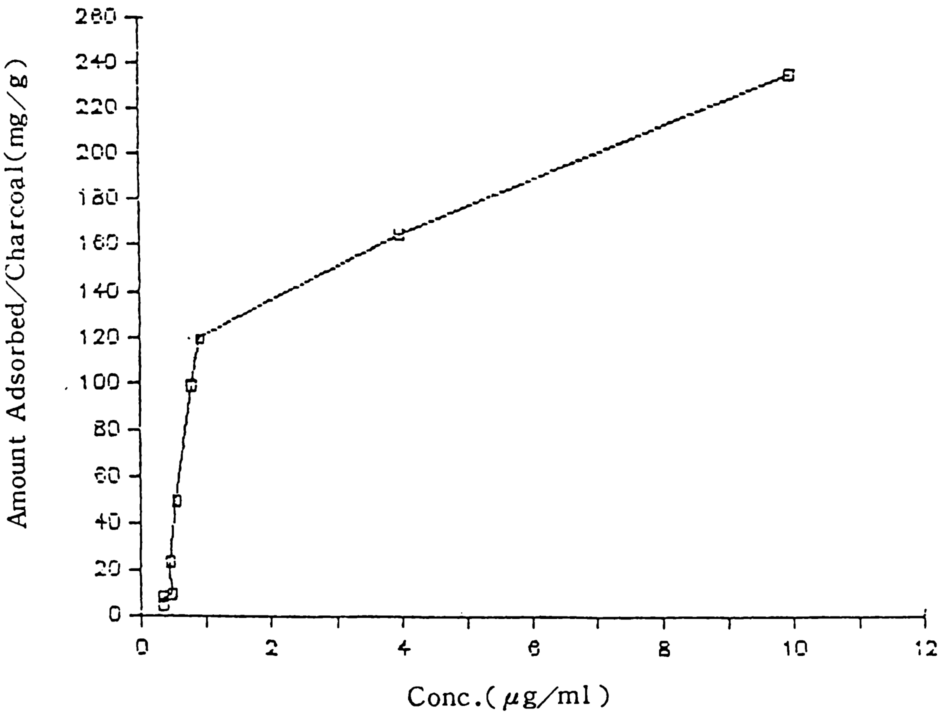

圖11　活性碳對鹽酸小蘗鹼之吸附等溫線

表11　於pH3.0、5.8、8.0下，活性碳對鹽酸小蘗鹼之吸附

Berberine · HCl sol/n			pH 3.0 Conc. (μg/ml)					pH 5.8 Conc. (μg/ml)					pH 8.0 Conc. (μg/ml)				
No.	(ml)	(mg/ml)	no.1	no.2	no.3	Mean	S.D.	no.1	no.2	no.3	Mean	S.D.	no.1	no.2	no.3	Mean	S.D.
1	25	1	0.1649	0.1962	0.1037	0.1549	0.04	0.0714	0.0977	0.0728	0.0806	0.01	0.0863	0.0816	0.0851	0.0843	.00
2	20	0.8	0.1475	0.1931	0.1116	0.1507	0.03	0.0505	0.0812	0.0684	0.0667	0.01	0.0554	0.0528	0.0498	0.0527	.00
3	15	0.6	0.0634	0.0563	0.1282	0.0827	0.03	0.0440	0.0756	0.0579	0.0592	0.01	0.0415	0.0453	0.0443	0.0437	.00
4	10	0.4	0.0575	0.0453	0.0859	0.0629	0.02	0.0404	0.0650	0.0489	0.0507	0.01	0.0311	0.0406	0.0423	0.0380	.00
5	5	0.2	0.0453	0.0370	0.0455	0.0426	.00	0.0390	0.0523	0.0382	0.0432	0.01	0.0226	0.0402	0.0389	0.0339	0.01
6	1	0.04	0.0306	—	—	0.0102	0.01	0.0216	0.0448	—	0.0221	0.02	0.0275	0.0322	0.0313	0.0363	.00
7	0.5	0.02	0.0205	—	—	0.0068	0.01	—	—	—		0.00	0.0355	—	0.0282	0.0212	0.02

Berberine · HCl sol/n			pH 3.0 Amount Adsorbed (mg)					pH 5.8 Amount Adsorbed (mg)					pH 8.0 Amount Adsorbed (mg)				
No.	(ml)	(mg/ml)	no.1	no.2	no.3	Mean	S.D.	no.1	no.2	no.3	Mean	S.D.	no.1	no.2	no.3	Mean	S.D.
1	25	1	24.9959	24.9951	24.9974	24.9961	.00	24.9982	24.9976	24.9982	24.9980	.00	24.9978	24.9980	24.9979	24.9979	.00
2	20	0.8	19.9963	19.9952	19.9972	19.9962	.00	19.9987	19.9980	19.9983	19.9983	.00	19.9986	19.9987	19.9988	19.9987	.00
3	15	0.6	14.9984	14.9986	14.9968	14.9979	.00	14.9989	14.9981	14.9986	14.9985	.00	14.9990	14.9989	14.9989	14.9989	.00
4	10	0.4	9.9986	9.9989	9.9979	9.9984	.00	9.9990	9.9984	9.9988	9.9987	.00	9.9992	9.9990	9.9989	9.9991	.00
5	5	0.2	4.9989	4.9991	4.9989	4.9989	.00	4.9990	4.9987	4.9990	4.9989	.00	4.9994	4.9990	4.9990	4.9992	.00
6	1	0.04	0.9992	1.0000	1.0000	0.9997	.00	0.9995	0.9989	1.0000	0.9994	.00	0.9993	0.9992	0.9992	0.9992	.00
7	0.5	0.02	0.4995	0.5000	0.5000	0.4998	.00	0.5000	0.5000	0.5000	0.5000	0.00	0.4991	0.5000	0.4993	0.4995	.00

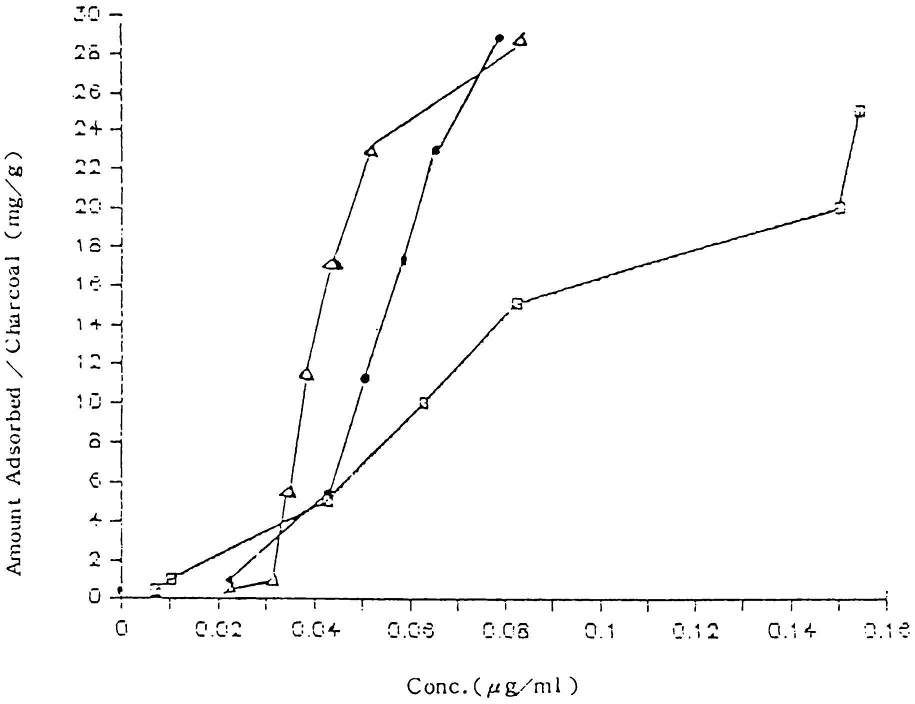

圖12　於pH3.8，5.8，8.8下，活性碳對鹽酸小蘗鹼之吸附等溫線

表12　鹽酸小蘗鹼之抗菌作用

Standand Solution (μg/ml)	200	100	50	25	12.5	6.25	M.I.C. (μg/ml)
Bacillus subtilis	−	−	+	+	+	+	100
	−	−	−	+	+	+	50
	−	−	+	+	+	+	100
Escherichia coli	−	−	+	+	+	+	100
	−	−	+	+	+	+	100
	−	−	+	+	+	+	100
Staphylococcus aureus	−	−	−	+	+	+	50
	−	−	−	+	+	+	50
	−	−	−	−	+	+	25

＋ : positive
－ : negative

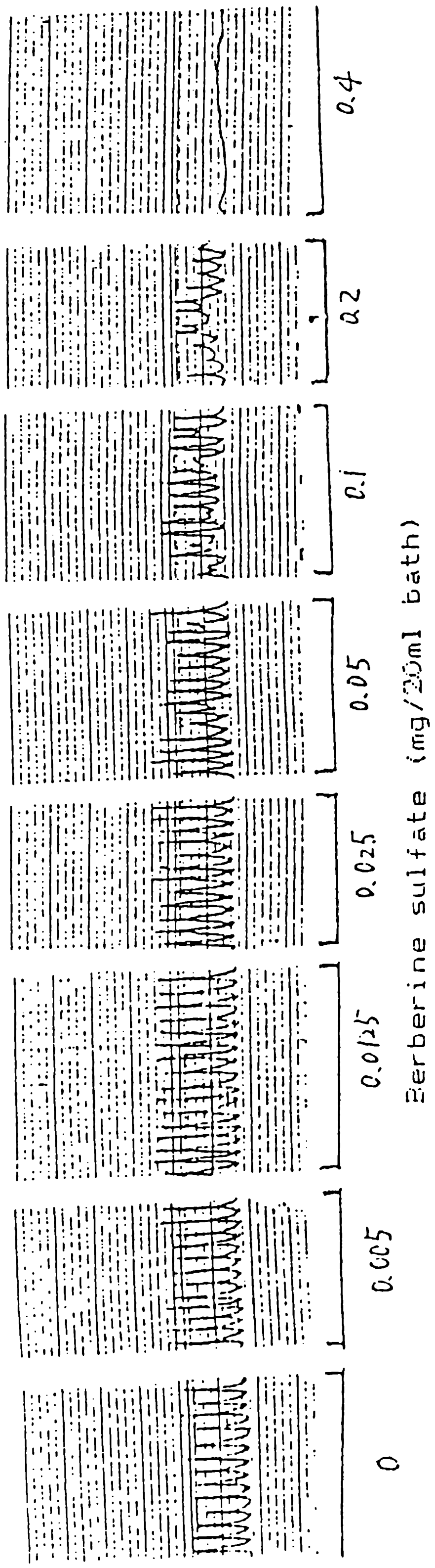

圖13 硫酸小蘗檢對家兎迴腸平滑肌之影響

表13 硫酸小檗鹼對家兔迴腸平滑肌之影響

Berberine sulfate		Subject 1	Subject 2	Subject 3	Subject 4	Subject 5	Mean	S.D.
μl	(mg/20ml bath)	Emax(g)						
0	0	4	7	6	9	5	6.20	1.72
1	0.0050	4.5	7	8	10	6	7.10	1.85
2.5	**0.0125	6	9	8	11	8	8.40	1.62
5	*0.0250	8	13	9	12	10	10.40	1.85
10	*0.0500	10	14	8	11	10	10.60	1.96
20	0.1000	12	13	7	8	11	10.20	2.32
40	0.2000	13.5	11	3	7	8	8.50	3.58
80	0.4000	11	3	0	0	7	4.20	4.26
160	0.8000	6.5	0			0	1.30	3.06
μl	(mg/20ml batn)	Emax / Emax of control						
0	0	1	1	1	1	1	1	0
1	*0.0050	1.13	1.00	1.33	1.11	1.20	1.15	0.11
2.5	*0.0125	1.50	1.29	1.33	1.22	1.60	1.39	0.14
5	*0.0250	2.00	1.86	1.50	1.33	2.00	1.74	0.27
10	*0.0500	2.50	2.00	1.33	1.22	2.00	1.81	0.47
20	0.1000	3.00	1.86	1.17	0.89	2.20	1.82	0.75
40	0.2000	3.38	1.57	0.50	0.78	1.60	1.56	1.00
80	0.4000	2.75	0.43	0.00	0.00	1.40	0.92	1.05
160	0.8000	1.625	0	0	0	0	0.33	0.65

* Significant different from value for no drug ($p < 0.05$; paired t-test, 4d.f.)
**Significant different from value for no drug ($p < 0.01$; paired t-test, 4d.f.)

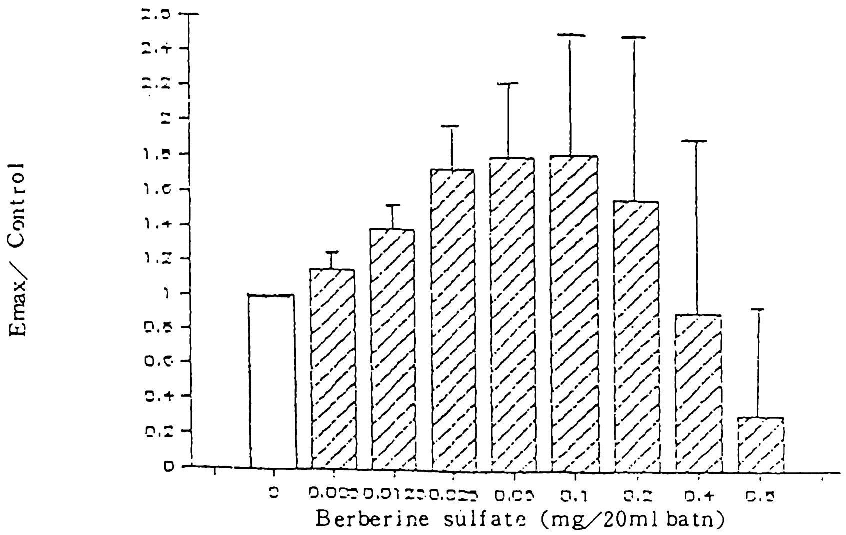

圖14. 硫酸小檗鹼 對家兔迴腸平滑肌之影響

圖14 硫酸小檗鹼對家兔迴腸平滑肌之影響

表14　各次試驗家兎體重一覽表

(Ⅰ) 一、硫酸小蘗鹼之靜脈注射投藥與活性碳吸著試驗：

Subject	1	3kg
	2	2.7kg
	3	2.8kg
	4	3.1kg

二、硫酸小蘗鹼經靜脈注射，於膽汁中排泄之含量測定試驗：

Subject	1	2.4kg
	2	2.8kg

三、口服硫酸小蘗鹼之絕對生體可用率試驗：

家兎	A	2.3kg
	B	2.2kg
	C	2.6kg
	D	2.0kg
	E	2.6kg
	F	2.0kg
	G	2.5kg

以劑量1mg/kg＞3mg/kg口服試驗之家兎體重2.1kg、2.7kg、2.3kg、3.0kg

(Ⅱ) 四、硫酸小蘗鹼對家兎小腸平滑肌之影響：

Subject	1	2.2kg
	2	2.5kg
	3	2.3kg
	4	2.0kg
	5	2.7kg

討 論

一、分析定量法之檢討

關於小蘗鹼的定量法，1959年Schein 等人首先提出以螢光法來探討小蘗鹼在大鼠的吸收、分佈及排泄問題，採Mannin−Bowman Spectrophotofluorometer定量各組織中小蘗鹼分布量，靈敏度達0.005 μg/ml ethylene dichloride，但此法缺乏選擇性(10)。1969年，Bhide等人亦採螢光法，但改變激發和放射波長，偵測多達0.1 μg(11)，1976年Sakural等人以tritium −labelled bereberine chloride(H^3−berberine.HCℓ)口服投與大鼠，用preparative paperchromatography純化後，以paper chromatoscanner測定其放射活性，由此定量探討小蘗鹼口服投與大鼠後的生體動態(12)。1977年Miyazaki 等採〔H^3〕berberine chloride 爲內部標準品，以CI(chemical ionization)mode GC−MS 來定量成人口服100mg鹽酸小蘗鹼後，尿液中的小蘗鹼含量，測量限度高達1ng/ml urine，但該法需將非揮發性四級胺的小蘗鹼經Sodium borohydride還原成tetrahydroberberine後，才能以GC−MS定量，又利用放射性同位素，其儀器裝置，檢品以及廢物處理，再再皆費時不便(13)。

近年來廣泛利用簡單、方便、分離效佳，靈敏度高的高效液相層析法（HPLC），在這方面有關小蘗鹼在生藥中之定量分析研究報告較多，而於生物檢品者極少。據1987年，張宏誌研究報告提出，小蘗鹼於家兎血淸、膽汁、尿液及糞便等生物性檢品之高效液相層析分析法，於血液檢品加Levomepromazine maleate 爲內標準後，取血淸來定量分析；尿液和膽汁檢品亦加 Levomepromazine maleate爲內標準品，再經5% 氫氧化銨鹼化後，以二氯甲烷萃取，抽提液減壓濃縮至乾後，加甲醇溶出，吹去溶媒，再加入移動相(63% CH_3CN 於0.1%H_3PO_4 水溶液，pH) 作爲注入液相層析儀檢品；糞便檢品則加入Papaverine HCl爲內部標準品，酸化後用乙酸乙酯萃取，萃取液減壓濃縮所剩溶液再通過XD−2 resin 之層析管，以甲醇洗出後減壓濃縮至乾，再加移動相作爲注入液相層析儀之檢品液。以UV 檢測器波長267nm檢測，最低檢測量分別爲血淸18ng/ml，尿液0.05 μg，同時亦得直線關係良好的校正曲線(4)。

本研究之定量分析法即採用高效液相層析法，血液檢品以簡單血淸蛋白沉澱法處理，取血淸作爲注入液相層析儀檢品；膽汁檢品則直接用二氯甲烷萃取，除去溶媒後，加入0.1%(V/V) H_3PO_4 水溶液(pH3.5)在UV檢測器波長330nm 下偵測，經分析結果，血液及膽汁檢品分析之Spiked concentration sample的變異係數均低於10%，經One−Way A-NOVA統計得$P>0.05$，即各次檢出數據無明顯差異，精確性佳。檢測最低量分別爲血淸檢品0.009 μg/ml，膽汁檢品0.05 μg；又各次求得之檢量線均可得良好直線相關性（$\gamma^2>0.99$）；在UV 330nm 下偵測所得圖譜上，小蘗儉層析峰與組織液內含成分分離較遠。而降低pH值或增大氰甲烷之比例，皆可減短滯留時間。本試驗中，各檢品均在注入液相層析儀 8 分鐘

左右即出現小蘗鹼層析峰。本研究之高級液相層析法與過去報告比較，可稱簡便。

二、小蘗鹼在腸內之吸收與分布之探討

本試驗以經熾熱活化後之活性碳做爲腸內吸附劑，比較有無投與活性碳對硫酸小蘗鹼靜脈注射後血中濃度、動態學叄數的影響，由結果顯示，有無投與活性碳對硫酸小蘗鹼靜脈注射後之血中濃度對時間曲線下面積（AUC）、清除率（Cl），半衰期（T½），經4隻家兎交叉試驗後，以Two-Way ANOVA統計結果無顯著差異。推測原因，可能靜脈注射硫酸小蘗鹼後，小蘗鹼分布至腸的量極低，或者投與的活性碳不足以將進入腸腔的小蘗鹼量吸著，故進一步再做活性碳對小蘗鹼吸著程度之體外試驗。

從不同量活性碳對同濃度鹽酸小蘗鹼之吸著試驗，乃在仿胃腸道酸鹼環境之pH3.0，5.8，8.0(14)下，單位量活性碳對小蘗鹼的吸著試驗，據所求得之吸附等溫線來看，與Langmuir 吸附等溫圖之型態相似，是以吸附方式可能爲先以單分子附上吸附劑表層分子，而呈現曲線急速上升，漸因可被吸附之分子的表面都被佔滿了，即吸附達飽和，而曲線趨於平緩(15、16)。由試驗結果比較，在鹽酸小蘗鹼濃度1mg/ml以下，幾乎達99%均被活性碳吸附；至於濃度1mg/ml以上之吸附情形，限於小蘗鹼鹽之水溶解度而未加以探討。不過，就試驗結果，靜脈注射硫酸小蘗鹼後，血中濃度在1.μg/ml以下，而投與之活性碳量爲5g，且多次重覆投入胃腸內，其應可將分布至腸之小蘗鹼吸著完全。1982年，Levy 曾提出口服與活性碳可因兩種機轉而增大藥品注射後之清除率：(A)干擾藥品之腸肝循環，(B)結合吸附了經腸壁擴散進入腸腔的藥品(5)。是以推測小蘗鹼於靜脈注射投藥後分布至腸的量極低。

在硫酸小蘗儉靜脈注射後之小蘗儉於膽汁中含量的測定方面，由張氏所得結果，小蘗儉於膽汁中排泄量極低，僅佔投藥量的0.5%(4)，本試驗結果相似，僅佔投與量約0.27%。

綜合上述結果，小蘗鹼於腸管內分布量極少，且非經腸肝循環的途徑而具殺菌效果。然而靜脈注射法投與小蘗儉是否可確實達腸內殺菌療效至爲可疑，此有待進一步探討。

三、口服小蘗鹼之絕對生體可用率之研究

據有關口服與小蘗鹼的文獻報告，口服小蘗鹼後之吸收甚低，在大鼠試驗中，即使加大劑量至1g m/kg，組織中仍難發現有小蘗鹼的分布(10)。張氏亦報告小蘗鹼於家兎口服之絕對生體可用率極低。

本試驗以劑量5mg/kg、10mg/kg、15mg/kg 分別口服投與家兎後，檢驗結果其血中濃度極低，有時甚至低於檢測濃度。又發生肛門大量出血、腸脫出、潰瘍、死亡現象，無法做交叉試驗求得口服之絕對生體可用率，但後來以1mg/kg、3mg/kg 之劑量再做口服試驗並無病變發生，顯示低劑量較爲安全。

爲何會發生病變現象呢？其原因有待進一步探討。是否與死劑量有關呢？據報告，小蘗鹼在小鼠之最低致死劑量爲66mg/kg i.p.，3.92mg/10g p.o(17)，而導致腸脫垂的生理原因爲肛門環束肌無力，直腸粘膜與腸壁之連結或直腸與周圍組織之連結鬆弛，亦或因引起腹內壓力增大之各種狀態等(18)。試驗時僅口服投與劑量5、10、15mg/kg 者發生病變，是以

因胃管灌藥方式不良之機率不大。根據過去離體試驗之研究報告指出，小蘗鹼對家兔腸管於小劑量時便緊張度上昇、運動亢進，大劑量時先興奮後麻痺；本研究亦摘取家兔迴腸段，以二倍逐級增量給藥做運動性試驗，結果同爲小劑量時具興奮作用，而加大劑量至0.1mg/20 ml bath後，其個體差異較大，不過，均有先興奮後麻痺之趨向。據此，口服投與小蘗鹼可造成對胃腸局部刺激，投藥劑量應小心選擇。又中藥製劑多以口服給藥爲主，在小蘗鹼含量極高之黃連、黃柏的使用上，是否亦該考量本問題？值得再研究。

又由家兔體內試驗得知擬以分布體積甚大，是小蘗鹼應有高幅度分布至組織，此或爲血中濃度低，靜脈注射後不易分配至腸管內，及口服後不易滯留於血中之原因的一部份。至於小蘗鹼是否於口服後多量積蓄於腸組織中，則尙待進一步研究。

四、小蘗鹼之抗菌作用

硫酸小蘗儉之抗菌作用，依Amin等人，於1969年提出的報告，其對各菌種的作用如下(15)：

菌　　種	最低抑菌濃度（ μg/ml）
Bacillus pumilus	25.0
Bacillus cersus	50.0
Bacillus subtilis	25.0
Corynebacterium diphtheriae	6.2
Escherichia coli	50.0－100.0
Klebsiella sp.	100.0
Pseudomonas sp.	100.0
Proteus sp.	100.0
Salmonella sp.	100.0
Staphylococcus aureus	6.2－ 50.0
Staphylococcus albus	50.0
Streptococcus pyogenes	12.5
Vibrio cholerae sp.	25.0－ 50.0
Xanthomonas sp.	3.1－ 12.5
Erwinia carotovora	100.0

根據本試驗之結果，硫酸小蘗鹼Bacillus subtillis、Escherichia Coli、Staphylococcus aureus等之最低抑菌濃度分別爲50－100，100，25－50 μg/ml 。然而，由硫酸小蘗鹼之靜脈注射投藥與活性碳吸著試驗結果，推測小蘗鹼靜脈注射後，腸內小蘗鹼分布量極低，其可達腸內殺菌效果可疑。過去小蘗鹼抗菌作用之體內試驗的研究報告，係以口服投藥

方式而呈現療效，如今知靜脈注射後腸吸收不佳，當小蘗鹼作爲腸內殺菌，整腸，止瀉用藥時，可能以口服投藥效果較靜脈注射爲佳。而硫酸小蘗鹼靜脈注射後於腸內分布低，如果亦具極佳腸內殺菌作用，其轉機爲何？是否因小蘗鹼在體內的代謝產物使然？值得進一步探討之。

謝 辭

本論文之研究過程中，承蒙明通藥廠QC主管莊藥師麗碧等協助，謹此致謝。

參考文獻

1. 戴新民：中藥藥理及應用 啓業書局 台北 pp. 721−741(1986).
2. Duta NK, and Panse MV: Usefulness of berberine (an alkaloid from Berberis aristata) in the treatment of cholera (experimental). Indian J. Med. Res., 52, 732−836 (1962).
3. Lahirl SC, and Duta NK: Berberine and chloramphenicol in the treatment of cholera and severe diarrhea. J. Indian Med. Assoc., 48, 1−10 (1967).
4. 張宏誌：小檗鹼於兔子活體可用率之研究 台北醫學院碩士論文 (1987)
5. Levy G: Gastrointestinal clearance of drugs with activated charcoal. N Engl J. Med., 307, 676−678 (1982).
6. Berg MJ, Berlinger WJ, Golberg MJ, Spector R, Johnson G: Acceleration of the body clearance of phnobarbital by oral activated charcoal. N Engl J. Med., 307, 642−644 (1982).
7. Neuvonen PJ, Elonen E: Effect of activated charcoal on absorption and elimination of phenobarbitone, carbamazepine and phenylbutazone in man. Eur. J. Clin. Pharmacol., 17, 51−57 (1980).
8. Tsuchiya T, Levy G: Relationship between effect of activated charcoal on drug absorption in man and its drug adsorption characteristics in vitro. J. Pharm. Sci., 61, 586−9 (1972).
9. Amine AH, Subbaiah TV, and Abbasi KM: Berberine sulfate: Antimicrobial activity, bioassay and mode of action. Can. J. Microbiol., 15, 1067 (1969).
10. Floreence TS, and Hanna C: The absorption, distribution and excretion of berberine. Arch. Internat. Pharmacodyn., 124, 317−325 (1960).
11. Bhide MB, Chavan SR, and Dutta NK: Absorption, distribution and excretion of berberine. Ind. J. Med. Res., 57 (11), 2128 (1969).
12. Shuichi S., Masakatus T, and Osamu T.: Studies on the absorption, distribution and excretion of H-berberine Chloride. Yakagaku Zasshi., 11(3), 351−355 (1976).
13. Hiroshi M, Etsuko S, Masataka IB, and Kunihiro N: Quantitative analysis of berberine in urine samples by chemical ionization mass fragmentography. J. of Chromatogr., 152, 79−86 (1978).
14. Milo Gibaldi: Biopharmaceutics and clinical pharmacokinetics 3rd ed. pp. 34−35 (1984).
15. Arthur Osol editor: Remington's Pharmaceutical Science 16th ed. pp. 260−265 (1980).
16. Samuel HM, Jerome BL: Fundamentals of physical chemistry 3rd ed. pp. 756−763 (1974).

17. 渡邊和夫：黃連之藥理 現代東洋醫學 Vol. 2 No.2 331-337 (1981).
18. 鄭經：家畜外科學 pp.275 (1970).

THE BIOPHARMACEUTICAL STUDIES OF BERBERINE

Rhei-Long Chen, Ming-Tsuen Hsieh, Hsin-Ling Hsiao, Cheng-Hsiung Liu*

Institute of Chinese Pharmaceutical Sciences
China Medical College,
**School of Pharmacy, National Taiwan University*

Berberine is an major alkaloid contained in the crude drug Coptis and Phellodendron. Galenical preparations containing these crude drugs, either in single component or multicomponent formulations are widely used in Chinese herbal medicine. The major use of berberine is the treatment of diarrhea and it is also mentioned that the antibacterial effect in the gastrointestinal tract is expected. Oral preparations as well as parenteral formulations containing berberine are available. The purpose of this study is to demonstrate the bioavailability after oral administration, to examine the effect of charcoal – an adsorbent – on the elimination of berberine when the drug is given intravenously, to elucidate the biliary excretion of the drug, and to demonstrate the antibacterial activities as well the effect of the drug on the intestinal motility.

In an two way crossover study rabbits were given berberine intravenously alone and together with oral charcoal in two different dosing period. The coadministration of charcoal did not significantly affects the clearance of berberine and the corresponding areas under the plasma concentration time curves as well as the therminal half-lives were not differ significantly ($P > 0.05$). The apparent volume of distributions of berberine was very high indicating the high tissue binding of this drug. The extent of biliary excretion was very low and only 0.27% of the administered dose was excreted from the bile. It was thus expected that the intravenous berberine should resulted in a low drug concentration in the gut lumen since the transfer of the drug from the systemic to the lumen, either via biliary route or by direct excretion through the gut wall, is insignificant.

The oral bioavailability of berberine was found very low. The resulted plasma concentrations were low throughout the study period.

When given in larger oral doses herniation at the anal region in some rabbits was found. The isolated sections of rabbit ileum was treated with berberine at different concentrations and the contraction of the smooth muscle was examined. It was found that at low drug concentrations the excitation was observed and at higher concentrations the contraction was inhibited leading to the paralysis of the muscle.

The antimicrobial activities of berberine was tested against several clinical isolates including Bacillus subtilis, Escherichia coli, and Staphylococcus aureus. The minimum

inhibitory concentrations varied against the different isolates but all are very high.

According to the above findings the authors wish to propose that the antimicrobial effect of berberine should not be an important issue for the clinical use of the drug while its effects on the gut muscle with respect to the gut motility should be the important point of interest. The effect of berberine on the physiological phenomenon such as hepatic or renal elimination of xenobiotics, especially when the berberine containing crude drug is used, remains further investigations.